OMAGGIO dell'A

Estratto da **Biochimica e Terapia Sperimentale**

Anno I. Fascicolo X.

A 230

12711

Una nuova reazione microchimica tintoriale specifica della sostanza colloide

per **R. TRAINA**

MILANO

INDUSTRIA GRAFICA ITALIANA STUCCHI CERETTI e C.

1909

ISTITUTO DI ANATOMIA PATOLOGICA DELLA R. UNIVERSITA' DI PAVIA
Direttore Prof. **A. MONTI**

Una nuova reazione micro-chimica tintoriale specifica della sostanza colloide

per R. TRAINA.

Col nome di colloide si è convenuto designare delle sostanze che hanno aspetto brillante, trasparente, consistenza semifluida, disposizione spesso in ammassi più o meno rotondeggianti o a zolle. E' noto d'altra parte che questo nome non comprende propriamente delle sostanze, le quali hanno composizione chimica caratteristica, ma che hanno, piuttosto delle proprietà fisiche determinate, le quali ricordano la colla o la gelatina.

Senza addentrarci in particolari chimici, che esorbiterebbero dal nostro campo, diremo solo di passaggio che la colloide è una sostanza simile alla gelatina, insolubile in acqua ed in acido acetico, solubile negli alcali nelle quali soluzioni non si lascia precipitare dall'acido acetico, o dall'acido acetico e dal ferrocianuro di potassio. Qualche volta si trova anche una sostanza colloide che trattata con alcali molto diluiti dà una soluzione simile alla mucina. La colloide è affine alla mucina, anzi da alcuni ricercatori, e forse a torto, viene considerata come mucina alterata.

Come campione della colloide si cita la colloide della tiroide, però essa si trova in condizioni normali anche nell'ipofisi, nelle vesc. seminali, nelle capsule surrenali, nella prostata etc., e come prodotto patologico si può formare in parecchi organi come p. es. rene, ovaio, fegato, etc.

Secondo Lubarsch le masse colloidi non sono solamente di provenienza epiteliale, ma possono derivare anche da cellule connettivali, cellule migratrici forse anche da globuli rossi, esse quindi non si confondono con l'ialina di provenienza epiteliale, secondo il concetto di Klebs ed Ernst, ma piuttosto con l'ialina di origine secretoria, intracellulare in cui egli distingue l'origine epiteliale e connettivale. A questo gruppo appartengono anche i corpi fuxinofili di Russel.

Se la composizione chimica della colloide normale e di quella patologica sia uguale, o simile è tuttora poco ben assodato, esistendo al riguardo delle osservazioni contraddittorie; è certo però che i caratteri ottici e tintoriali di entrambe queste sostanze sono presso a poco uguali, sicchè dal punto di vista istopatologico a noi basterebbe poter disporre di una colorazione tipica per mettere in evidenza detta sostanza.

Poichè se alcune reazioni chimiche servono a distinguere la colloide dalla mucina e dalla ialina tanto in stati normali che in stati degenerativi, non si può dir lo stesso per riguardo alla colorazione che queste tre sostanze, considerate da molti come affini, assumono di fronte alle sostanze coloranti specialmente negli stati intermedi o di passaggio.

Lasciando da parte le reazioni chimiche, e fermandoci solo alle reazioni cromatiche o per meglio dire al comportamento di queste sostanze di fronte alle sostanze coloranti adoperate per metterle in evidenza nei preparati microscopici possiamo dire che nei casi tipici le reazioni cosidette metacromatiche della mucina con la saffranina, con il violetto di genziana, il bleu di metilene, di tionina, di toluidina, la vesuvina etc. la colorazione con la muciemateina ed il mucicarmino di Mayer, con l'ematossilina di Delafield, col bleu policromo di Unna etc. dànno dei risultati evidenti, su cui non ci può essere discussione.

Più difficile è la distinzione per la ialina, poichè questa si colora con i coloranti protoplasmatici, specialmente con i colori acidi di anilina, ma non è indifferente di fronte ai colori basici, essa si colora in altri termini, più o meno intensamente con le sostanze coloranti nucleari, quantunque nelle miscele tra colori basici ed acidi l'ialina preferisca le sostanze acide. Per la sostanza ialina non esistono colorazioni specifiche: col metodo Weigert per la fibrina la ialina si colora dal bleu al violetto, col metodo Van Gieson essa assume una colorazione dal rosso brillante all'arancio, col metodo Russel si colora in rosso.

Anche per la colloide non esistono colorazioni specifiche: tutti i colori acidi di anilina la mettono più o meno bene in evidenza, ma contemporaneamente essi colorano diversi componenti del tessuto, in cui detta sostanza si trova.

Col metodo Weigert per la fibrina la colloide assume una tinta bleu o violetto; con l'ematossilina ferrica si colora in bruno più o meno scuro; con la miscela triacida di Ehrlich può assumere una tinta aranciata più o meno rossa e col metodo Russel si colora in rosso.

Come facilmente si può rilevare, questi caratteri e questo comportamento della ialina e della colloide di fronte alle sostanze coloranti sono tutt'altro che decisivi e se possono servire per i casi tipici, nei quali anche senza bisogno di speciali reazioni e colorazioni, si arriva al concetto diagnostico non sono affatto sufficienti nei casi dubbi per escludere qualunque equivoco.

La colorazione con l'auranzia, secondo l'esperienza del Profes-

sor Guizzetti, può servire per la colorazione della colloide della tiroide, ma ha lo svantaggio, come egli stesso aggiunge, che questa sostanza colora anche, quantunque più debolmente le granulazioni e le zolle di glicogeno.

Il bleu di chinoleina non colora poi la colloide in modo caratteristico.

Riasssumendo si può concludere che manca sinora una colorazione specifica delle sostanze colloidi e per meglio dire di quelle sostanze che hanno l'aspetto della colloide contenuta nei follicoli tiroidei. Donde la necessità di escogitare nuove colorazioni allo scopo di riuscire a colorare elettivamente la colloide e distinguere nettamente questa sostanza dalla ialina.

Con questo intendimento, dopo numerosi tentativi, a me pare di essere riuscito a trovare un metodo che colora la colloide in condizioni normali e patologiche in maniera specifica.

Ecco brevemente il metodo:

1° Fissazione in liquidi che contengono sublimato (soluzione satura di sublimato, liquido Carnoy, Foà, Zenker, sublimato ed alcool, sublimato acetico etc.) in liquidi che contengono acido osmico, però in quest'ultimo caso bisogna procedere all'imbianchimento delle sezioni.

2° Mordenzamento delle sezioni con una soluzione acquosa all'1 % di resorcina risublimata o di tannino per 1-2 ore.

3° Colorazione per 5-10 minuti in una soluzione acquosa all'1 % di rosso acridina.

4° Rapido lavaggio in acqua distillata.

Se contemporaneamente si desidera la colorazione degli altri elementi costituenti il tessuto, in cui trovasi la sostanza colloide, dopo il lavaggio in acqua si passano le sezioni per 1-2 minuti nella seguente miscela:

Soluzione acquosa satura di acido picrico	cmc.	95
Soluzione acquosa all'1 % di bleu acqua	cmc.	5

Rapido lavaggio in acqua.

Passaggio rapido in alcool assoluto cambiato un paio di volte.

Xilolo.

Balsamo.

Con questo metodo la colloide si colora in rosso brillante o rosso carmino, i nuclei pure in rosso, il protoplasma delle cellule in verde erba o verde giallognolo, il connettivo in bleu-celeste e gli eritrociti in giallo canarino o giallo aranciato a seconda della fissazione.

Per la buona riuscita del metodo su esposto sono indispensabili alcune particolarità, sulle quali io mi permetto di insistere, perchè altrimenti si ottengono dei preparati poco dimostrativi.

La soluzione di resorcina o di tannino deve essere preparata da recente ed è meglio fare il mordenzamento in vasetto oscuro o al buio.

Il lavaggio in acqua deve essere molto rapido e non si deve mai abbandonare in acqua le sezioni già colorate.

Il passaggio in alcool assoluto deve essere anche alquanto rapido ed appena il preparato ha assunto in alcool una colorazione verdiccia bisogna passare le sezioni in xilolo. Dirò di passaggio che quando il preparato ha assunto la giusta tonalità di colorazione si deve vedere macroscopicamente il fondo color verde su cui spiccano dei punti od aree rossigne più o meno visibili e grossi a seconda della specie animale e dello stato di replezione o meno dei follicoli tiroidei. Così p. es. nelle sezioni provenienti dalla tiroide di testuggine si vede un fondo verde intersecato da numerose zone bene evidenti colorate in rosso, perchè quì gli alveoli sono molti ampi e d'ordinario ripieni di colloide; mentre nella tiroide dell'uomo e dei bovini queste aree colorate in rosso sono molto irregolari e non sempre evidenti.

Con questo metodo io ho allestito un numero considerevole di preparati in condizioni normali e patologiche.

Per la dimostrazione della colloide normale mi son servito della tiroide di uomo; di cane (Canis familiaris); di gatto, (Felis domestica); di cavallo, (Equus caballus); di vitello, di vacca, di bue, di toro, (Bos taurus); di topo; (Mus decamanus e Mus musculus); di coniglio, (Lepus cuniculus); di cavia, (Cavia cobaja); di marmotta, (Arctomys marmota); di pollo, (Gallus domesticus); di passero (Fringilla domestica); di anatra, (Anas boschas); di testuggine, (Testudo graeca, Chelone imbricata); di biscia di acqua dolce, (Tropidonotus natrix), e molti altri che per brevità ometto.

Per provare il metodo in condizioni patologiche mi sono servito a preferenza di reni in preda a processi infiammatori cronici indurativi e presentanti macroscopicamente delle cisti più o meno sporgenti o no sulla superficie renale e contenenti una sostanza in parte liquida in parte solida sotto forma di blocchetti rotondeggianti, di varia grossezza, splendenti, di consistenza semi solida simile alla gelatina e che noi siamo abituati a chiamare cisti colloidee ed a considerare questa sostanza come il prodotto di un processo degenerativo cioè della degenerazione colloidea. Questa si ha specialmente, come si è detto, nei processi infiammatori cronici, in cui l'abbondante proliferazione connettivale strozza ed isola canalicoli e glomeruli, in questi casi nel lume dei canalicoli e nello spazio esistente nella capsula del Bowmann frequentemente compare a poco a poco una sostanza omogenea proveniente dalla degenerazione degli epiteli di rivestimento dei tubuli, o dalla trasformazione delle anse del glomerulo. Commisti a questa sostanza si vedono degli elementi cellulari più o meno alterati qualche globulo rosso, ed una sostanza piuttosto liquida la quale si tinge diversamente e che molto probabilmente è albumina. Alcuni tubuli urinarii in questi casi si vedono non infrequentemente occupati da masse o globi colloidei, che costituiscono i così detti cilindri colloidei.

Anche in rosso si colorano i cilindri colloidei, che si riscontrano nelle urine. Tanto la colloide della tiroide che queste masse contenute nelle cisti sopra dette, che le masse contenute nel lume dei canalicoli assumono col mio metodo una bella colorazione rosso carmino e si colorano in bruno nerastro con l'ematossilina ferrica.

E' superfluo insistere sui caratteri che presenta la colloide della tiroide che sono alquanto variabili a seconda dei vari animali presi in esame; così dirò di passaggio che la coloide contenuta nella tiroide del topo (Mus decumanus) assume sempre una colorazione rosso intensa e si presenta sempre in masse aventi la stessa compatezza alla periferia ed al centro, e riempienti quasi tutto il lume dei follicoli, mentre invece la colloide contenuta nella tiroide della biscia (Tropidonotus natrix) si colora, a pari condizioni, meno intensamente e sembra più tenue, si presenta a zolle parallele e non riempie quasi mai il lume dei follicoli. La colloide contenuta nei follicoli della tiroide di testuggine (Testudo graeca, Chelone imbricata, Emis aeuropea) presenta dei caratteri intermedi.

Le variazioni della quantità e struttura del tessuto connettivo contenuto nella tiroide degli animali presi in esame, oscillano tra limiti così ampi che non si possono fissare dei quadri caratteristici ed in una parola per mia personale esperienza ho potuto persuadermi che negli animali superiori la tiroide va molto spesso incontro ad alterazioni più o meno gravi, per cui il tessuto connettivo aumenta considerevolmente mentre negli animali inferiori la tiroide si riscontra il più delle volte in condizioni normali. Così per esempio tra un centinaio di tiroidi di *Mus decumanus* esaminate, solo in un caso ho trovato aumento considerevole del connettivo, nel *Tropidonotus natrix* e nella *Testudo graeca* non ho mai riscontrato alterazioni. Le tiroidi dei bovini, degli equini e dei carnivori erano per lo più alterate, come pure alterate erano le tiroidi umane prese in esame.

Ma per il caso nostro le alterazioni della tiroide non hanno considerevolmente importanza dal momento che la colloide ha sempre dimostrato lo stesso comportamento di fronte alla colorazione con l'acridina.

Per provare che il rosso acridina colora in rosso solamente ed esclusivamente oltre i nuclei (e i derivati da essi) la sostanza colloide era necessario vedere come si comportano il muco, l'ialina, l'amiloide, l'albumina, la fibrina le quali sostanze acune volte, come è risaputo, possono ingenerare delle confusioni e rendere assai difficile la diagnosi.

Dopo numerose prove su materiali diversi e per mezzo di svariati confronti con gli altri metodi sono in grado di dire che il muco tanto in condizioni normali che patologiche non si colora col mio metodo in maniera tipica, esso assume una tinta di un bluastro sporco a contorni mal definiti, ma non si colora mai in rosso.

La sostanza ialina tanto intracellulare che estracellulare sia recente che antica non assume mai tinta rossa, essa si colora indistintamente in tonalità che variano dal verde al giallo al bleu. Essa si distingue nettamente dal protoplasma delle cellule normali, il quale si colora sempre in verde erba, si distingue dalle emazie che si colorano giallo tipico, di guisa che, a parte la disposizione e la sede, se ne può fare sempre distinzione come pure si può distinguere se trattasi di ialina recente o antica; nel primo caso la colorazione si

avvicina più al verde, nel secondo più a bleu. Quando il connettivo assume il posto della ialina, allora entra in iscena la caratteristica colorazione bleu-celeste del connettivo. Ad ogni modo debbo aggiungere che il metodo non è specifico per l'ialina.

Quella sostanza di incerta natura e di dubbia interpretazione che trovasi entro i tubi di alcuni cilindromi non è colloide, essa non assume mai la colorazione rossa, prende piuttosto una tinta bluastra simile ma non identica a quella della albumina e della mucina; d'altra parte essa non subisce la metacromasia e non reagisce come muco in presenza delle reazioni specifiche per detta sostanza di guisa che non è mucina, nè albumina, ma qualche cosa di intermedio e ad ogni modo non è colloide.

La sostanza amiloide non si colora in rosso, essa non comportasi in maniera tipica col mio metodo di guisa che non posso trar conclusioni, d'altra parte i casi di degenerazione amiloide che io ho avuto a disposizione son troppo pochi.

La fibrina e l'albumina si colorano quasi allo stesso modo cioè in bluastro più o meno intenso ma diversamente del connettivo, esse non si colorano mai in rosso.